

Aus dem Strahlenbiologischen Laboratorium der Radiotherapeutischen
Klinik der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. H. R. Schinz)
Arbeit unter Leitung von P. D. Dr. Hedi Fritz-Niggli

**Über die Wirkung
von 180-keV- und 31-MeV-Röntgenstrahlen
auf das Ehrlich-Asziteskarzinom der weißen Maus**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

Vorgelegt von
Kurt Reiche
von Lage

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. H. R. Schinz
und von P. D. Dr. Hedi Fritz-Niggli

Zürich 1954



Erschienen in der „Strahlentherapie“, Bd.: 97, S. 549—567, 1955

Aus dem Strahlenbiologischen Laboratorium (Leitung: P. D. Dr. Hedi Fritz-Niggli) der Radiotherapeutischen Klinik der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. H. R. Schinz)

Über die Wirkung von 180-keV- und 31-MeV-Röntgenstrahlen auf das Ehrlich-Asziteskarzinom der weißen Maus

Von
Dr. Kurt Reiche
aus Lage

Mit 16 Abbildungen

Einleitung

Zur weiteren Abklärung der biologischen Wirkung des 31-MeV-Betatron wurde eine vergleichende Untersuchung — Betatron einerseits, 180-keV-Stabilivolt andererseits — am Ehrlich-Asziteskarzinom der weißen Maus durchgeführt. Auf die Beeinflussung der Mitosen durch Strahlen wurde dabei der Hauptwert gelegt. Für unsere Experimente wählten wir möglichst niedrige r-Dosen, um eine allgemeine Schädigung der Versuchstiere durch die Totalbestrahlung weitgehend zu vermeiden und da vielleicht durch das Überschreiten einer Maximaldosis ein eventueller Wirkungsunterschied beider Strahlenarten verwischt wird.

Methode

A. Bestrahlung

Die Bestrahlung der Versuchstiere erfolgte einmal mit dem Stabilivoltgerät (180 keV), zum anderen mit dem 31-MeV-Betatron.

Die Versuchstiere wurden in einem Plexiglasphantom, dessen einzelne Platten auswechselbar und mittels zweier Plexiglasstäbe zu fixieren waren, total bestrahlt. Eine dieser Platten, 33 mm dick mit einem Durchmesser von 15 cm, enthielt drei mit Atmungslöchern versehene Kammern zur Aufnahme der Mäuse. Die Tiere wurden von der Abdominalseite her bestrahlt und zu diesem Zwecke seitlich und auf dem Rücken mit Watte in den Kammern so fixiert, daß sie sich nicht drehen konnten.

Das Plexiglasphantom hat eine Strahlenabsorptionscharakteristik, die annähernd der lebenden Gewebes entspricht. So ist es möglich, durch Vorschaltung von 33 mm Plexiglas vor die zur Aufnahme der Mäuse bestimmte Platte die Versuchstiere weitgehend in den durch die Tiefendosiskurve bestimmten maximalen Wirkungsbereich der Betatronstrahlen zu bringen.

Bei der 180-keV-Bestrahlung waren der Versuchphantomkammer 5 mm Plexiglas vorgeschaltet (Deckel der Kammer), bei 31 MeV insgesamt 33 mm. Über die Arbeitsweise mit dem Plexiglasphantom s. a. *Fritz-Niggli* (1).

Der Fokus-Phantomfrontabstand betrug beim Betatron 75 cm, beim Stabilivolt 48 cm. (31 MeV: Feldgröße, Kreis von 15 cm Durchmesser mit Ausgleichskörper, 180 keV: 6 mA, 1 mm Cu, Feldgröße, Kreis von 40 cm Durchmesser). Bestrahlt wurde mit Dosen von 500 r, 400 r, 200 r, 150 r, 100 r und beim Betatron ferner mit 35 r.

(Mittlere Dosisleistung bei den Experimenten mit 500 r, 31 MeV: 23,9 r/min, 180 keV: 25,4 r/min; bei den Experimenten 100—400 r, 31 MeV: 24,4 r, 180 keV: 23,2 r/min.)

Die Messungen wurden mittels eines Victoreen-Condensor-r-Meters im Phantom durchgeführt. Zu diesem Zwecke wurde die zur Aufnahme der Mäuse bestimmte Phantomplatte gegen eine der Meßkammer angepaßte ausgetauscht. Gemessen wurde beim Stabilivolt vor dem Versuch, ebenso beim Betatron, dort zusätzlich während des Versuchs mit einer zweiten Meßkammer im Nebenstrahl.

B. Versuchsmaterial

115 weißen männlichen Mäusen, die bis auf 10% demselben Stamme angehörten (21—25 g schwer), wurden je 0,3—0,4 ccm unverdünnter Aszites (Ehrlich-Asziteskarzinom) intraperitoneal injiziert. Das Ehrlich-Asziteskarzinom war von Professor *Langendorff*, Heiligenberg, freundlicherweise dem Institut überlassen worden und wurde dort weitergezüchtet. Geimpft wurden nach Vorversuchen Serien von je 6—10 Tieren, im allgemeinen 8—10. Von diesen wurden je 3 mit 31-MeV-Strahlen und 180-keV-Strahlen behandelt. Die restlichen wurden als Kontrolltiere und zur weiteren Überimpfung verwendet. Bestrahlt wurden insgesamt 67 Mäuse. Die Bestrahlung erfolgte am 7.—9. Tag nach der Impfung, im allgemeinen am 8. Ein früherer Termin erwies sich als ungünstig, da dann besonders die wiederholte Entnahme von Aszites zu schwierig, wenn nicht unmöglich war.

2, 5, 8, 12, 24 und 48 Stunden nach Bestrahlung mit 500 r wurde den Tieren Aszites punktiert und die Mitoserate des Punktats bestimmt. Bei einer Versuchsserie konnten alle Werte bis auf den 5-Stundenwert bei jedem Tier, bei einer anderen Serie die 5- und 24-Stundenwerte gewonnen werden.

Bei der vergleichenden Untersuchung der Wirkung von 35—400 r wurde 5 und 24 Stunden nach Ende der Bestrahlung Aszites punktiert. Impfung und Entnahme von Aszites wurden mit sterilen Instrumenten nach Säuberung der Punktionsstelle mit 70%igem Alkohol durchgeführt.

C. Zytologische Untersuchung

Um eine möglichst genaue Analyse der Strahlenschädigungen zu ermöglichen, wurde eine übersichtliche Darstellung der Aszites-Karzinomzellen, speziell ihrer Mitosen, erstrebt. Dabei erwies sich die Methode als außerordentlich wichtig.

a) Fixierung

Der Fixierung ist die größte Bedeutung beizumessen. Schon beim luftgetrockneten Ausstrich kommt es zu geringfügiger Schrumpfung der Zellen und Bildung einer stark lichtbrechenden Zellwand, die weitere Untersuchungen erschwert (selbst beim Vitalpräparat nach einigen Stunden zu beobachten).

Ausstrichpräparate

Bouins-Fixierung (2) läßt die Zellen in weit größerem Ausmaß schrumpfen. Die Fixierung führt man am besten am luftgetrockneten Präparat in Petrischalen durch, da sich der Ausstrich sonst leicht vom Objektträger löst.

Alkohol-Fixierung des Ausstrichpräparates (2—3' 45%iger Alkohol, dann 10—15' absoluter Alkohol) dagegen führt zu keiner zusätzlichen Schrumpfung der Zellen und Verdickung der lichtbrechenden Schicht der Zellwand, selbst nicht nach 24 stündiger Fixierung, wie sie bei der Feulgenfärbung (3) zur Beseitigung des Plasmogens (3) erforderlich ist.

Aufbewahrung in Flüssigkeiten

Am schonendsten erwies sich die Fixierung in einem Eisessig-Alkoholgemisch (1:6). (Carnoy'sche Flüssigkeit, die zusätzlich Chloroform enthält, läßt die Zellen zu sehr schrumpfen.)

fen.) Eine Schrumpfung der Zellen ist praktisch nicht mehr nachzuweisen, doch stellte es sich heraus, daß sehr bald nach Fixierung die ursprüngliche Anzahl der Mitosen (in $\frac{0}{100}$ der ausgezählten Zellen) nicht mehr nachzuweisen ist. Durch frühzeitige Eliminierung des Eisessigs konnte dies vermieden werden.

Verfahren: Ca. 0,4 ccm Aszites werden mit einer Rekordspritze der Bauchhöhle des Versuchstieres entnommen und in etwa 0,6 ccm des Eisessig-Alkoholgemisches injiziert. (Sofortige Injektion und sofortiges Schütteln verhindern weitgehend Zusammenballung der Zellen im Gemisch.) Nach etwa 2,5—3' filtriert man, indem man gleichzeitig absoluten Alkohol zugibt. Der Rückstand wird mit absolutem Alkohol vom Filtrierpapier in ein Fläschchen oder eine Ampulle gespült. Das Zellbild wird besonders klar, da sich die Substanzen, die die Aszitesflüssigkeit oft milchig trüben, im Filtrat befinden.

Man kann die Zellsuspension auch nach 3 Minuten mit 2000 Umdrehungen/Min. zwei Minuten lang zentrifugieren, das Fixierungsgemisch vorsichtig abpipettieren, absoluten Alkohol zugeben und das Zentrifugat aufschütteln. (Länger und schneller zu zentrifugieren ist nicht ratsam, da die Zellen leicht verklumpen und eine Auswertung schwierig, wenn nicht unmöglich wird.)

Bei unseren Untersuchungen wurde mit oben beschriebenem Eisessig-Alkoholgemisch fixiert, sofort untersucht (Abschluß der jeweiligen Untersuchung vor 2 Stunden nach Fixation) oder die Modifikation mit zusätzlichem Alkohol angewandt.

Der zu untersuchende Aszites wurde sofort fixiert, da die Mitoserate *in vitro* in der Wärme und in der Kälte absinkt (s. a. *Loewenthal* und *Jahn* [4], *Seeger* [5] und *Haagen* und *Krückeberg* [6]). Die Angaben beziehen sich auf Aszites, dem weder eine Nähr- noch Kulturlösung zugesetzt ist.

b) Färbung

Haematoxin-Eosin stellt nach dieser Präparation das Zellplasma recht ordentlich, den Kern dagegen unsauber dar. Die Entscheidung, ob bei einer Zellteilung eine Chromosomenpyknose vorliegt oder nicht, ist fast unmöglich.

Feulgen gibt die Teilungsstadien gut wieder.

Im Versuch verwendete Färbungen

Die Färbung wurde mit Carmin-Essigsäure durchgeführt, teilweise außerdem mit Methyl-Grün-Pyronin (Ciba). Ein Tropfen fixierter Aszites (mit Fixierungsflüssigkeit) wurde auf einen Objektträger gegeben und dann ein Tropfen Carmin-Essigsäure aufgetropft, beides vorsichtig mit einem Deckgläschen abgedeckt. Nach etwa 20 Sekunden wurde durch vorsichtiges Überstreichen eines darübergelegten Löschblattes an den Rändern des Deckgläschens die dort übergetretene Flüssigkeit entfernt. Überstreichen des Deckgläschenrandes mit Glycerin-Gelatine verhinderte das Eindringen von Luft.

Mit Sudanschwarz B wurde zum Nachweis der Plasmakörperchen (7 und 8) gefärbt. (Ausstrich luftgetrocknet, Alkohol s. o., Sudanschwarz 3 Min., Differenzierung mit Alkohol, Aqu. dest. Abgedeckt wurden die Präparate mit Glycerin-Gelatine.)

Janusgrün diente zur Färbung der Vitalpräparate.

Ausgezählt wurden jeweils 1000 Zellen eines Präparates mit Hilfe des Okular-Netzmikrometers von Zeiss. Pyknosen und Kleinzellnekrobiosen wurden dabei mitgezählt. Pro Wert wurde ein Präparat ausgezählt, bei unübersichtlichen — starke Trübung des Aszites usw. — mehrere.

Das unbestrahlte Ehrlich-Asziteskarzinom

A. Morphologie des Ehrlich-Asziteskarzinoms

Das Zellbild des Asziteskarzinoms ist recht bunt. So ist es nicht verwunderlich, daß die Ansichten der verschiedenen Verfasser, die sich mit der Morphologie des Asziteskarzinoms beschäftigt haben, auseinandergehen. Nach *Homann* (2) scheinen alle Zellen gemeinsamen Ursprungs zu sein. *Seeger* (9) teilt sie nach ihrem vitalfärbereichen Verhalten in 4 Typen ein, deren erster präkanzerös (!) und der zweite die eigentliche Tumorzelle sein soll. Wegen mangelnder Granulafärbung, irreversibler Färbung mit sauren Farbstoffen wie Auramin, Martiusgelb und Ammonium pikrat, die sonst in lebende Zellen nicht eindringen, sieht er die Typen III und IV als nekrobiotische oder nekrotische Zellen an. In Übereinstimmung mit *Pirwitz*, *Schwarz* und *Seyfarth* (10), ferner

Dietrich und *Schützinger* (11) teilten *Ringleb* und *Scherer* (12) die Zellen der Größe nach in 2 Haupttypen ein, deren ersten sie unterteilten. In Anlehnung an *Homann* (2) erwies sich folgende Einteilung als zweckmäßig:

1. Stammzelltyp

Weitaus am verbreitetsten ist eine kleine, runde bis ovoide Zelle, deren Kern meist ein wenig randständig ist (Abb. 1). Der Kern selbst ist rund bis länglich, hat allgemein 1—2 deutlich sichtbare Nukleolen, keine Vakuolen und ist von einer deutlichen Kernmembran umgeben. Färbt man mit Janusgrün, zeigt sie eine halbmondförmige Verdickung (Golgiapparat nach *Graffi* (13)). In Wirklichkeit scheint es sich um eine Anhäufung von Mitochondrien, die dem Kern kappenförmig aufliegt, zu handeln (s. a. *Ringleb* und *Scherer* [12]). Das Zytoplasma ist fein granuliert mit einer wabigen Grundstruktur. Man kann in ihm sehr kleine Mitochondrien nachweisen und häufig Plasmagranula, die sich färberisch gleichartig verhalten und sich sehr gut mit Sudanschwarz darstellen lassen. Nach *Schümmelfeder* (7) handelt es sich bei den Plasmagranula um Reaktionsprodukte vitaler Zellen auf äußere Einflüsse, die fast ausschließlich aus Nukleoproteiden bestehen. *Landschütz* und *Kausche* (8) glaubten in ihnen elektronenmikroskopisch eine retikuläre Struktur nachweisen zu können.

1a. Nierenkernige

Bei etwa 1% aller Zellen ist der Zellkern nierenförmig, öfters mit den Zeichen deutlicher Kernamitose (Abb. 4, 16). (Bei Ausstrichen, ferner den

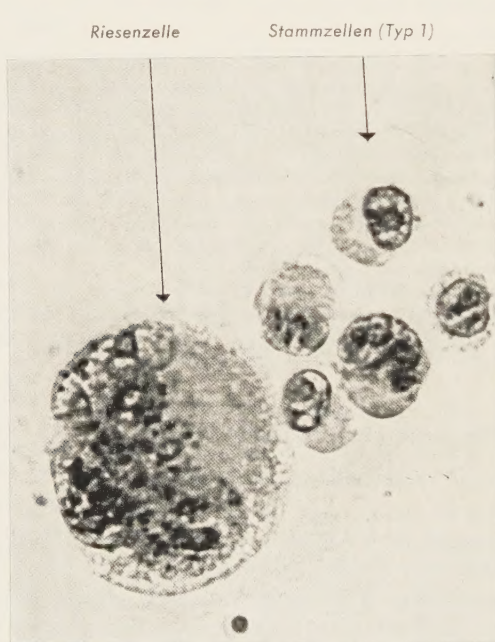


Abb. 1. Unbestrahlte Ehrlich-Asziteskarzinomzellen. Kleine Stammzellen (Typ 1) und Riesenzelle (Typ 2a) s. Text. Vergrößerung etwa 1500fach.

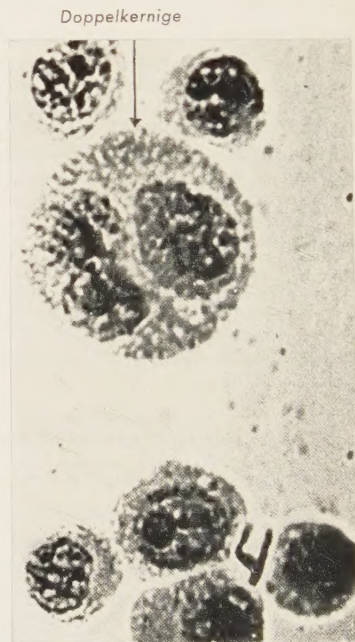


Abb. 2. Unbestrahlte Ehrlich-Asziteskarzinomzellen. Stammzellen (Typ 1) und Doppelkernige (Typ 2). Ein Kern der Doppelkernigen ist eingeschnürt. Vergrößerung etwa 1500fach.

Deckglaströpfchenpräparaten schon bei geringer Quetschung und auch bei nicht ganz frischem Aszites ist die Zahl der Nierenkernigen erhöht.) Es scheint nicht begründet, die nierenkernigen Zellen grundsätzlich als dem oben beschriebenen Stammzellentyp nicht zugehörig zu betrachten. Die Größe der Zellen und ihrer Kerne ist nicht konstant und variiert nach *Homann* (2) um ein ganzzahliges Vielfaches.

2. Mehrkernige

Ferner findet man mehrkernige Zellen (0,77% aller Zellen). 90% besitzen zwei stets randständige und längliche Kerne, wobei der eine doppelt so groß wie der andere sein kann. Er ist dann meist eingeschnürt. Beide Kerne können sich in Kernmitose befinden.

Im Zytoplasma ist kein Unterschied gegenüber den Zellen vom Typ I und Ia erkennbar. Die Zellform ist rundlich, die Zellgröße etwa verdoppelt (Abb. 2).

Die restlichen 10% mehrkerniger Zellen weisen 3—8 Kerne auf, wobei die Häufigkeit mit steigender Kernzahl linear abnimmt. Meist liegen die Kerne randständig mehr oder weniger auf eine Zellhälfte verteilt. In den anderen Fällen bilden sie einen Ring am Zellrand. Häufiger kann man eine oder mehrere Zytoplasmavakuolen beobachten. Außer diesen mehrkernigen Zellen finden sich in einer Häufigkeit von nicht ganz 1%

2a. Riesenzellen

(Abb. 1), bei denen es praktisch unmöglich ist festzustellen, aus wieviel Einzelkernen ihr großer lappiger Kern aufgebaut ist. Nach *Huth* (14) und anderen handelt es sich um eine degenerative Zellform. Kern- und Zytoplasmastruktur sind meist etwas vergrößert. Manchmal scheint der Kern die ganze Zelle auszufüllen, ist verwaschen in seiner Struktur und hat eine bis mehrere Vakuolen (sterbende Zelle?). Riesenzellen mit kleinem, schmalem randständigen Kern und einer Riesenvakuole, wie sie von *Auler* und *Hohenadel* (15) nach Schleuderung und Kältereiz beschrieben werden, wurden nur bei starker Vermehrung der Kleinzellnekrobiosen gefunden. Man darf annehmen, daß sie lediglich bei starker Vitalitätsschädigung der Asziteskarzinomzellen auftreten.

3. Kleinzellnekrobiosen

(Abb. 3). Dies sind die kleinsten „Zellgebilde“, die beim Aszites in recht unterschiedlicher Anzahl vorkommen. Oft haben sie nur einen ganz dünnen Plasmasaum, der häufig nicht mehr mit Sicherheit festgestellt werden kann. Das Chromatin des Kerns ist meist verklumpt, nimmt öfters die Form aneinandergereihter Halbmonde an, manchmal auch die von Ellipsen. Bei oberflächlicher Beobachtung verwechselt man diese Kerne leicht mit Mitosestadien (Metaphase, Anaphase). Das Chromatin wird stets intensiv gefärbt (Karmin-Essigsäure), ebenso mit Janusgrün und Sudanschwarz, was bei vitalen Zellen nicht der Fall ist. Dort kann man allenfalls beobachten, daß die Kernmembran (oder alles aufgelagerte Mitochondrien?) sich mit Sudanschwarz schwach anfärbt.

Diese Zellgebilde gehören zum Typ IV nach *Seeger* (9), Zelltyp 2a wohl teils zu Typ III. *Auler* und *Hohenadel* (15) glaubten, daß diese Zellen besonders aktiv seien, entsprechend den Borstschen Kleinzellen (16). Gemäß ihrem Verhalten gegenüber Farbstoffen (und auch nach den Untersuchungen von

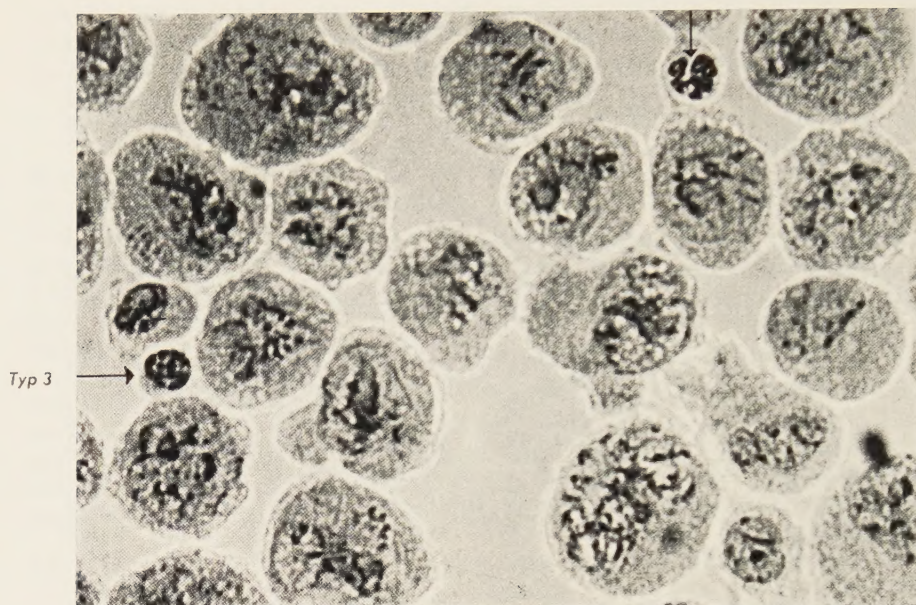


Abb. 3. Unbestrahlte Ehrlich-Asziteskarzinomzellen. Zu sehen sind Stammzellen (Typ 1) und deutlich hervortretend mit ihrem verklumpten Chromatin zwei Kleinzellnekrobiosen (Typ 3). Bei einer ist die „Schleifenbildung“ des Chromatins gut zu sehen. Der Plasmasaum ist meist nicht so gut erhalten wie bei den hier abgebildeten. Vergrößerung etwa 1500fach.

Nierenkernige

Tropfige Degeneration des Zytoplasmas

Typ 3

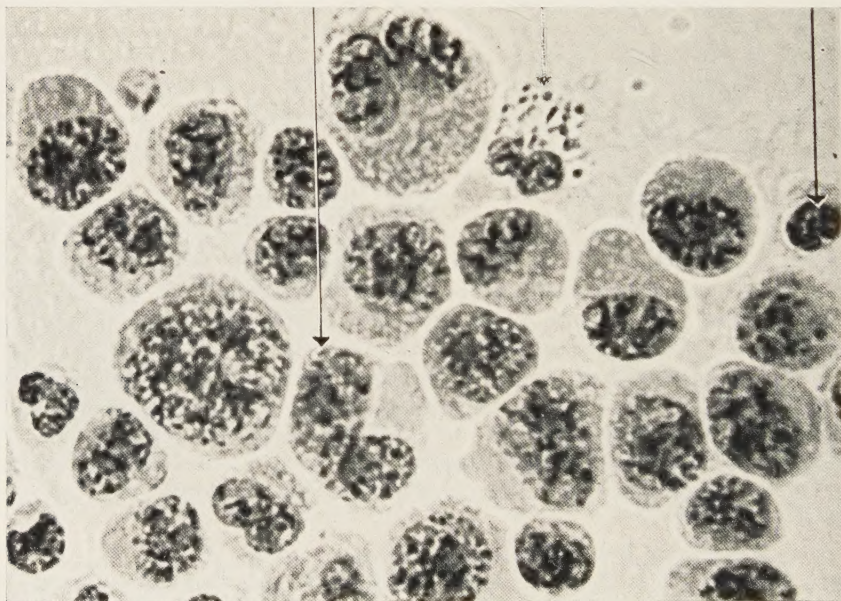


Abb. 4. Ehrlich-Asziteskarzinom, unbestrahlt. Zu sehen sind: Eine Nierenkernige (1a), Stammzellen verschiedener Größe und Kleinzellnekrobiosen (3). Vergröß. etwa 1500fach.

Luther am soliden Ehrlich-Karzinom [16]) scheint aber gerade das Gegenteil der Fall zu sein, um so mehr, als das Chromatin geradezu verklumpt erscheint.

Vielleicht lag bei *Auler* und *Hohenadel* (15) eine Verwechslung mit den Ausnahmезellen *Luthers* (16) (s. a. *Vollmar* [17]) vor, die ebenfalls sehr klein sind, deren Kern und Kernmembran sich aber ordentlich darstellen. Es handelt sich bei diesen wohl um gerade geteilte kleine Telophasen des Stammzelltyps, was der Ansicht *Luthers* entspricht (s. a. Vermehrung).

Uns scheinen die Kleinzellnekrobiosen teils aus pyknotischen Telophasen, teils aus zerfallenden Mehrkernigen und Riesenzellen, vielleicht auch aus Stammzellen zu entstehen (Abb. 4).

B. Vermehrung der Ehrlich-Asziteskarzinomzellen

Die normale Vermehrung der Aszites-Karzinomzellen geschieht durch Mitosen, in unserem Falle in $27,20/_{00}$ aller Zellen. *Brodersen* (18) fand $20-30/_{00}$, *Scherer* (12/22) 22 und $27/_{00}$, *Pirwitz* (10) $10,8/_{00}$ beim Ehrlich-Asziteskarzinom.

(Die Mitosezahlen, bezogen auf 1000 Zellen, sind bei den einzelnen Tieren und Punktionen, ferner den einzelnen Präparaten nicht konstant.)

Gegenüber den Mitosen treten andere Teilungsformen weit zurück.

Kernamitosen wurden in $2/_{00}$ gefunden (Abb. 2).

Zellamitosen, die nach *Homann* (2) sehr selten sind, wurden nicht mit Sicherheit gesehen.

Endomitosen (2/19) sind schwierig festzustellen. (Nach *Homann* [32] kommen sie in bösartigen Tumoren in 2—48% der Mitosen vor.) Wir beobachteten keine eindeutige Endomitose!

a) Normale Mitosen

Die einzelnen Mitosestadien sind gut zu erkennen, ausgenommen die frühen Prophasen. Bei etwa 35% aller Zellen findet man im Kern Anhäufungen von Chromatin, die ein frühen Prophasen sehr ähnliches Bild bedingen. Wahrscheinlich handelt es sich hier aber nur um Verklumpungen von heterochromatischen Chromosomenabschnitten, die nach *Ries-Gersch* (21) sowohl mehr zufällig eintreten, als auch ganz normale Erscheinungen darstellen können. Da sich nach Bestrahlung diese Chromatinanhäufungen nicht vermehren, kann es sich sicher nicht um Chromosomenpyknoten handeln. Da wir die frühen Prophasen somit nicht eindeutig erkennen konnten, dürfte die von uns festgestellte Mitosengesamtzahl immer etwas zu niedrig gegenüber der Wirklichkeit liegen.

Manchmal verläuft die Mitose in etwas veränderter Form. Schon gegen Ende der Anaphase bilden die Chromosomen einen Stern, der dann selbst nach Durchschnürung des Zelleibs in der Telophase zunächst noch erhalten bleibt. Die dann entstandenen Zellen sehen aus wie verkleinerte Metaphasen. Die Sternform allerdings ist kleiner, die Chromosomen sind verkürzt und verdickt und liegen dicht beieinander. Eventuell entsprechen diese Zellen den Ausnahmезellen *Luthers* (16/17).

Einzelne Telophasen sind später gelegentlich schwer von Prophasen zu unterscheiden. Die Chromosomen sind kurz, gleichmäßig verteilt, meist nicht gewunden.

b) Pathologische Mitosen

Die Mitosen des unbestrahlten Aszites verlaufen keinesfalls immer ungestört (s. a. Abb. 10). Neben der Quellung einzelner Chromosomen findet man einzelne pyknotische Chromosomen oder auch nur einen Teil eines Chromosoms pyknotisch. (In der graphischen Darstellung — Abb. 10 — kurz als Chromo-

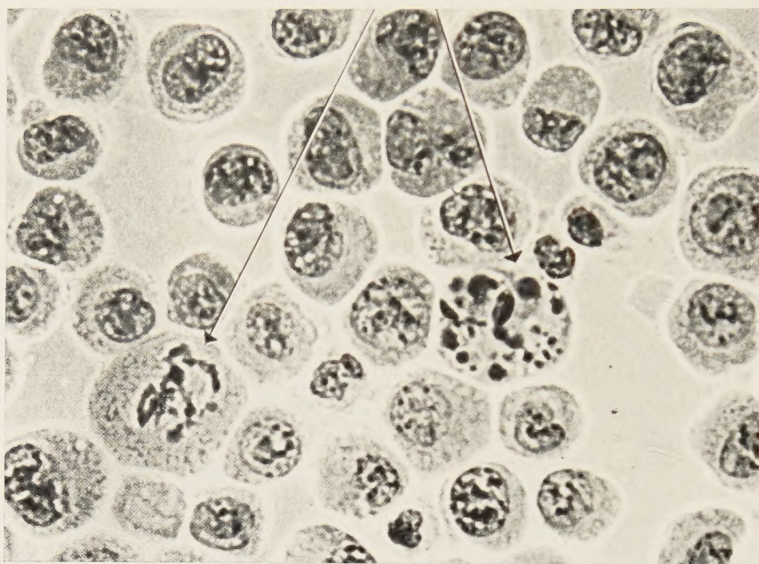


Abb. 5. Ehrlich-Asziteskarzinom 24 Stunden nach 31-MeV-Bestrahlung mit 500 r. Neben den verschiedenen großen Stammzellen (Typ 1) sind zwei gequollene Zellen mit ausgesprochener Karyorrhexis zu sehen. Vergrößerung etwa 1400fach.

somenpyknosen zusammengefaßt.) Der Zellkern kann im Zustande der Karyorrhexis (Abb. 5) gelegentlich Mitosestadien ähneln, vielleicht handelt es sich teils auch um schwerst geschädigte Mitosen. Diese Zellen wurden in der Mitosegesamtzahl nicht berücksichtigt. Weiterhin kann die Verteilung gestört sein. Einzelne Chromosomenteile liegen in der Metaphase außerhalb oder inmitten der Äquatorialplatte. In der Anaphase bleiben sie in der Äquatorialebene liegen. Sehr selten ist auch eine Spindelhälfte gespalten. In der Ana- und Telophase kommen noch die Brückenbildungen durch Fragmentationen und Verklebung der Chromosomen hinzu. In etwa 0,35% der Mitosen treten Polyaster auf.

Die gestörten Mitosen machen beim Kontrollaszites etwa 25% der Gesamtmitosezahl aus. Dieser Umstand erschwert die Analyse der Strahlenschädigung, da Strahlen gleiche Schäden produzieren.

Relativ häufig findet man Zellen mit vermehrter Chromosomenzahl (19/20). (Diploider Satz = 40.) Eine Vermehrung über einen tetraploiden Satz hinaus wurde nicht beobachtet, von *Fritz-Niggli* (20) auch Hexaploidie.

c) Verteilung der Mitosestadien

Beim Auswerten des unbestrahlten Aszites findet man hauptsächlich Metaphasen (45% aller Mitosen, s. a. Abb. 10). Fast 25% davon sind anormal, wobei die Chromosomenpyknosen etwas mehr als die Hälfte ausmachen. Pro- und Telo-Phasen sind mit etwa 20—25% in annähernd gleichem Maße vorhanden. Bei den Prophasen sind fast 35%, bei den Telophasen weit weniger gestört. Anaphasen sind nur in fast 10% vorhanden, davon sind bis zu 40% pathologisch, hauptsächlich durch Brückenbildung.

Das bestrahlte Ehrlich-Asziteskarzinom

A. Quantitative Analyse der Strahlenschädigung

a) Häufigkeit der Mitosen zu verschiedenen Zeiten nach Bestrahlung

Die Anzahl der Mitosen wurde 2, 5, 8, 12, 24 und 48 Stunden nach der Bestrahlung mit 500 r (180 keV und 31 MeV) bestimmt (Abb. 6).

Schon nach 2 Stunden ist eine Verminderung festzustellen, die nach 5 Stunden mit etwa $10/100$ Mitosen ihr Maximum erreicht. Ein völliger Mitosestop trat nicht ein. Da von Luther (23 24) beim soliden Ehrlich-Karzinom der weißen Maus selbst nach Gabe von 20000 r kein völliges Sistieren der Teilungen erreicht werden konnte, ist das nicht verwunderlich.

Nach 8 Stunden ist bereits ein Ansteigen der Mitosen erkennbar. Der Kontrollwert wird nach 24 Stunden fast erreicht.

Nach 24 Stunden divergieren die Mitosewerte der einzelnen bestrahlten Tiere sehr.

Sie können nach 48 Stunden die Norm weit übertroffen haben oder stark abgefallen sein. (Bedingt ist dieser Unterschied durch die Kleinzellnekrobiosen, die als Zellen mitgezählt wurden — s. a. Methode.)

Während bei einem Versuchstier die Mitosen noch ansteigen, erreicht bei einem anderen die Zerstörung der Zellen schon einen hohen Grad. Nach 24 Stunden waren die mit 180 keV bestrahlten Tiere ad exitum gekommen, nach weiteren 48 Stunden alle Versuchstiere. Aus Vorversuchen ergab sich 48 Stunden nach 180-keV-Bestrahlung kein unterschiedliches Verhalten gegenüber 31 MeV.

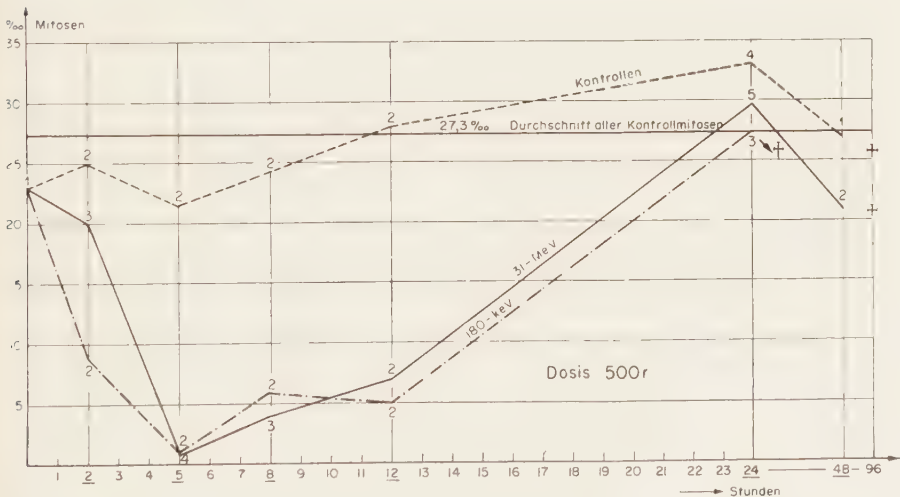


Abb. 6. Mitosenkurven des Ehrlich-Asziteskarzinoms nach 500 r 180-keV- und 31-MeV-Bestrahlung. In der Abszisse sind die Stunden nach Bestrahlung angegeben, in der Ordinate die Mitosen in $\frac{0}{100}$ der Gesamtzellzahl. Der Querstrich gibt den Aszitesmitosendurchschnitt aller im Versuch verwendeten unbestrahlten Tiere an. Die Anzahl der jeweils untersuchten Tiere ist an den betreffenden Punkten der Kurven angegeben. Die Kreuze kennzeichnen den Tod der Versuchstiere.

Die durchschnittlichen Mitosegesamtzahlen nach beiden Bestrahlungsarten differieren zur jeweiligen Untersuchungszeit nur unbedeutend. Zur Zeit des Mitosenminimums beträgt die mittlere Differenz nur $0,024\%_{00}$.

Bei einzelnen Tieren bildete sich außer wenig Aszites im Stichkanal ein solider Tumor. Die Mitosenwerte des Aszites dieser Versuchstiere weichen von denen der anderen ab. Die Hemmung ist nicht so stark, aber längerdauernd. Die Kleinzellnekrobiosen sind 24 Stunden nach Bestrahlung schon deutlich vermehrt. Diese Versuchstiere überleben die anderen um etwa 8 Tage. Bei einem bildete sich am 2. Tag nach der Bestrahlung eine Fistel, durch die sich der Aszites und der nekrotisierende Tumor entleerte. Dieses Tier lebt jetzt nach drei Monaten noch. Das Überleben der Versuchstiere nach Fistelbildung und Nekrotisieren des Tumors beobachtete auch Luther (24).

b) Abhängigkeit des Effektes von der Dosis

Da sich nach Bestrahlung mit einer Dosis von 500 r praktisch kein unterschiedlicher Effekt für 180-keV- und 31-MeV-Strahlen ergab, wurde eine vergleichende Dosiseffektkurve für geringere Dosen aufgestellt. Die Dosen waren: 100 r, 150 r, 200 r und 400 r. Eine Dosis von 35 r wurde lediglich mit dem Betatron gegeben. Die Anzahl der jeweils bestrahlten Mäuse variierte zwischen 3 und 9 und ist bei jedem Punkt der Kurven angegeben (Abb. 7, 8).

Die Werte für 500 r stammen aus den vorhergehenden Versuchen. Untersucht wurde zur Zeit des Mitosenminimums (5 Stunden nach Bestrahlung) und nahe des Maximums (24 Stunden nach Bestrahlung).

5-Stundenwerte

Die stärkste Hemmung wurde mit Dosen von 400 r und 500 r erreicht. Dabei traten noch $0,76\%_{00}$ und $0,8\%_{00}$ Mitosen, bezogen auf die Gesamtzellzahl, auf. Das sind $2,82\%$ und $3,71\%$ des Durchschnittskontrollwertes. Mit abnehmender Dosis nimmt bis 150 r die Hemmung stetig ab, dann in verstärktem Maße. Selbst nach 35 r kommt es aber noch zu einer deutlichen Hemmung der Mitosen (Abb. 7).

Die Mitosenmittelwerte nach Bestrahlung mit 31-MeV-Röntgenstrahlen liegen, abgesehen von den Werten nach 500 r, immer etwas über den entsprechenden der 180 keV-Röntgenstrahlen. Die größte Differenz trat nach Bestrahlung mit 150 r auf. ($180 \text{ keV} = 2,66\%_{00}$; $31 \text{ MeV} = 4,8\%_{00}$ Mitosen; Differenz = $2,14$.) Der Unterschied ist bei den einzelnen Dosen angesichts der verhältnismäßig großen Streuung so gering, daß er sich bei statistischer Prüfung mittels der t-Verteilung (25) als nicht bedeutsam erweist.

Selbst bei 150 r — 11 Versuche, 9 Freiheitsgrade, $D = 2,14$ — liegt das $t = 0,66$ weit innerhalb der Sicherheitsgrenze. Bei einer Wahrscheinlichkeit von 5% würde das t für $P = 0,05$ 2,262 betragen, d. h. in 5% aller Fälle stellte sich dieser Wert ein, wenn die beiden Versuche identisch wären. Ein Hinweis auf einen wesentlichen Unterschied ist aber erst bei einem P kleiner als 0,05 gegeben.

24 Stunden nach Bestrahlung ist die Anzahl der Aszitesmitosen bei den einzelnen Versuchstieren weit weniger konstant (s. Abb. 8). Auffällig ist, daß nach einer Dosis von 100 r die Gesamtmitosen nach 180-keV-Bestrahlung gegenüber den Kontrollen deutlich vermindert sind. Nach 200 r liegt der Mittelwert bereits über dem der Kontrollen und steigt mit der Dosis bis 400 r langsam weiter an. Nach 31-MeV-Bestrahlung liegt die Mitosenzahl schon bei 150 r über der der Kontrolle, bleibt jedoch mit steigender Dosis hinter der nach 180-keV-Bestrahlung zurück, ausgenommen die 500-r-Werte.

Die Unterschiedlichkeit der Kurven erweist sich bei Anwendung der t-Verteilung als unwesentlich. Die Werte liegen weit innerhalb der Sicherheitsgrenze. (Maximaler Unterschied: $t = 0,69$ für $P = 2,228 [5\%]$.)

c) Einzelne Mitosestadien

Zum Studium der Verteilung der einzelnen Mitosestadien zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung wurde folgendermaßen verfahren: Die Werte für 5 Stunden und 24 Stunden wurden aus der Addition sämtlicher Ergebnisse nach 100—400 r gewonnen. Die Verteilung der einzelnen Mitosestadien scheint nicht von der Dosis abhängig zu sein, da sie in den Einzelwerten mit verschie-

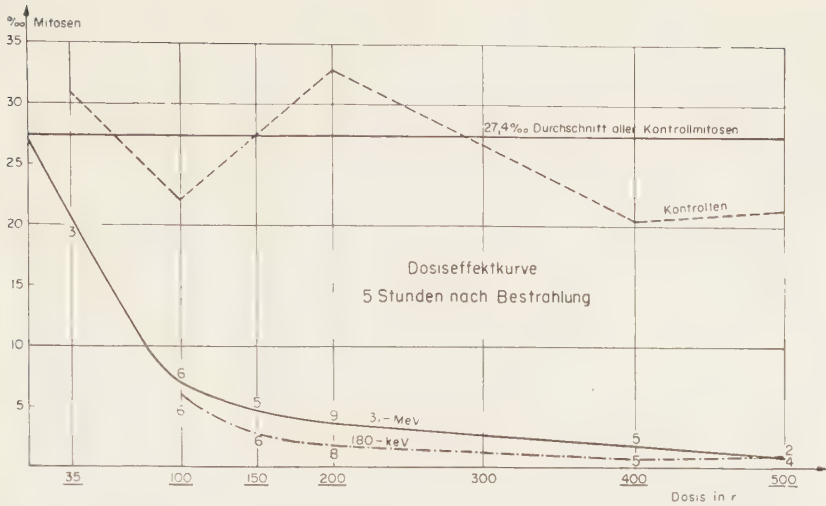


Abb. 7. Dosis-effekt-Kurve des Ehrlich-Asziteskarzinoms 5 Stunden nach Bestrahlung mit 180-keV- und 31-MeV-Röntgenstrahlen. Abszisse: Dosen in r; Ordinate: Mitosen in $\frac{0}{100}$ der Gesamtzellzahl. Der waagerechte Strich gibt den Aszitesmitosendurchschnitt aller im Versuch verwendeten unbestrahlten Tiere wieder. Die Anzahl der jeweils bestrahlten Tiere ist an den einzelnen Punkten angegeben.

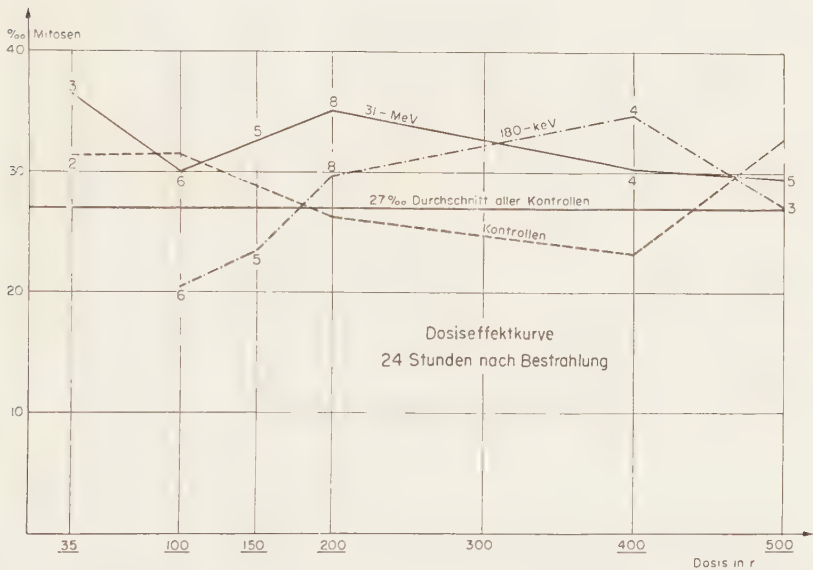


Abb. 8. Dosis-effekt-Kurve des Ehrlich-Asziteskarzinoms 24 Stunden nach Bestrahlung mit 180-keV- und 31-MeV-Röntgenstrahlen. Abszisse: Dosen in r; Ordinate: Mitosen in $\frac{0}{100}$ der Gesamtzellzahl. Der waagerechte Strich gibt den Aszitesmitosendurchschnitt aller im Versuch verwendeten unbestrahlten Tiere wieder. Die Anzahl der jeweils bestrahlten Tiere ist an den einzelnen Punkten angegeben.

denen Dosen nicht voneinander abweichen. Es schien uns deshalb zulässig, die Resultate zusammenzufassen. In Abb. 9 sieht man eine Gegenüberstellung eines Versuches mit 200 r und den addierten Werten 100—400 r.

Die anderen zitierten Werte stammen aus den Versuchen mit 500 r, die zur Aufstellung der Mitosekurve dienten. Es werden sämtliche Stadien, ob anormal oder nicht, berücksichtigt. In Abb. 10 ist die Verteilung der Stadien wiedergegeben, wie sie beim unbestrahlten Aszites auftritt, in Abb. 11 5 Stunden und 24 Stunden nach 180-keV- und 31-MeV-Bestrahlung.

2 Stunden nach Bestrahlung mit 31 MeV und 180 keV ist die Vermehrung der Prophasen von 21% auf etwa 33—42% eindeutig. Die Telophasen sind ebenso vermindert. Die Anteile der Meta- und Ana-Phasen variieren reziprok.

Nach 5 Stunden (s. Abb. 11) sind die Prophasen ungefähr auf den Normalwert abgefallen. Die Metaphasen sind nach 31 MeV wenig, nach 180 keV stärker vermehrt, die Telophasen nach 31 MeV wenig vermehrt, nach 180 keV dagegen deutlich vermindert. (In der Abbildung sind die Prozentwerte der Einzelstadien bezogen auf die Gesamtmitosezahl = 100% dargestellt. Die Säulen sind unterteilt und geben die Anteile der geschädigten und normalen Mitosen wieder.) Innerhalb der einzelnen Stadien zeigen sich aber erhebliche qualitative Unterschiede. Die pathologischen Mitosen, die beim unbestrahlten Aszites insgesamt 25% ausmachen, sind in den einzelnen Stadien auf 50% und mehr angestiegen. Lediglich bei den Telophasen wird dieser Wert nicht ganz erreicht.

24 Stunden nach Bestrahlung variiert der Prozentwert der Pro- und Anaphasen um den Kontrollwert. Die Metaphasen sind jetzt weiter vermehrt, nach 180 keV wieder stärker als nach 31 MeV (s. 5-Stundenwerte).

Die Telophasen sind vermindert, auch gegenüber den 5-Stundenwerten, dabei sind die nach 5 Std. und 180 keV schon deutlich verminderten Telophasenwerte nach 24 Std. nur noch wenig weiter abgesunken.

Die Analyse der einzelnen Stadien zeigt auch hier eine erhebliche Vermehrung pathologischer Mitosen, die schon 5 Stunden nach Bestrahlung beobachtet wurde. Die unge-

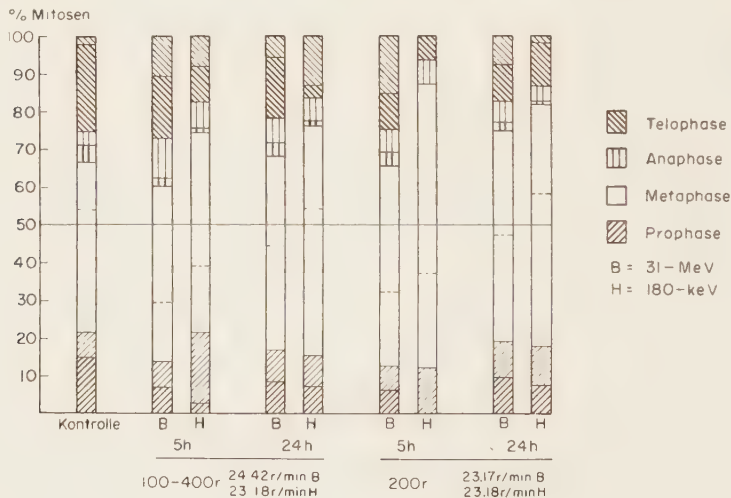


Abb. 9. Verteilung der einzelnen Mitosestadien nach 180-keV- und 31-MeV-Bestrahlung und bei den Kontrollen. Angegeben sind die Werte für 5 Stunden und 24 Stunden nach Bestrahlung mit 200 r und die addierten für 100—400 r. In der Abbildung sind die Prozentwerte der Einzelstadien bezogen auf die Gesamtmitosezahl = 100% dargestellt. — Links auf der Abbildung die Prozentskala —. Der verstärkt schraffierte Anteil der einzelnen Teilungsstadien gibt die ungeschädigten, der dünn schraffierte die pathologischen Teilungen wieder. Bei den Metaphasen sind die ungeschädigten unterhalb der Unterteilung angegeben.

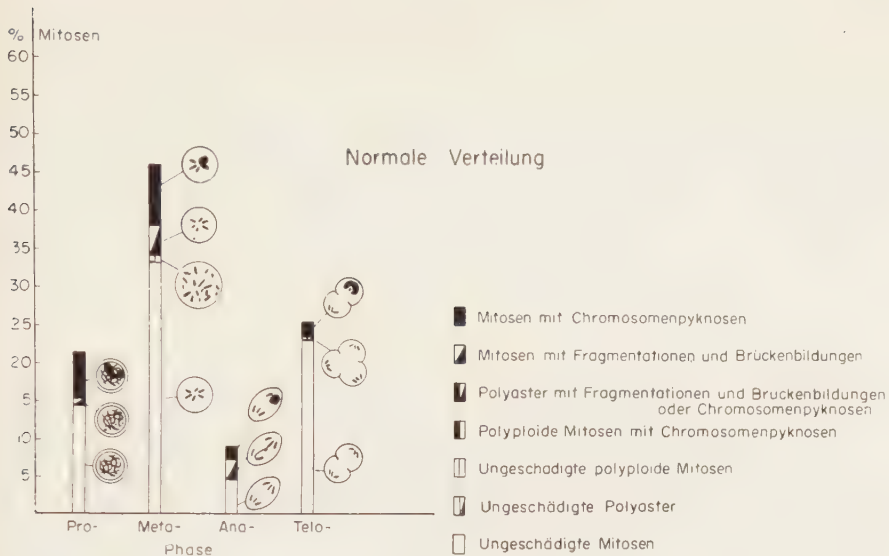


Abb. 10. Verteilung der einzelnen Mitosestadien beim unbestrahlten Ehrlich-Asziteskarzinom. Die Prozentwerte der Einzelstadien, bezogen auf die Gesamtmitosezahl = 100%, sind dargestellt. Die Säulen sind unterteilt. Der unausgefüllte Teil gibt die normalen Mitosen wieder. Im ausgefüllten Teil sind die pathologischen Mitosen differenziert dargestellt.

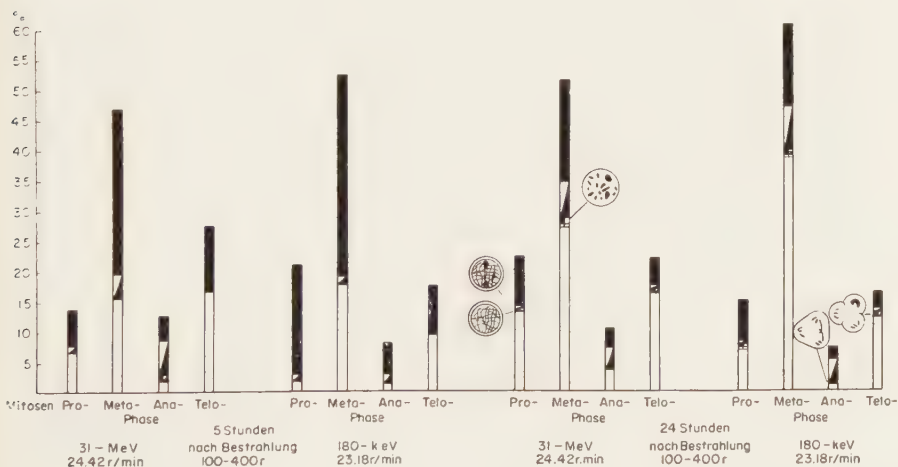


Abb. 11. Verteilung der einzelnen Mitosestadien des Ehrlich-Asziteskarzinoms 5 Stunden und 24 Stunden nach Bestrahlung mit 100–400 r der 180-keV- und 31-MeV-Röntgenstrahlung. Es handelt sich um die Durchschnittswerte der addierten Werte von den Versuchen mit 100 r, 150 r, 200 r und 400 r. Die Prozentwerte der Einzelstadien, bezogen auf die Gesamtmitosezahl = 100%, sind dargestellt. Die Säulen sind unterteilt. Der unausgefüllte Teil gibt die normalen Mitosen wieder. Im ausgefüllten Teil sind die pathologischen Mitosen differenziert dargestellt.

geschädigten Metaphasen haben den Kontrollwert allerdings wieder erreicht, so daß die starke Vermehrung der Metaphasen nicht nur durch die Anhäufung gestoppter Metaphasen bedingt ist.

Von den Anaphasen sind bis zu 75% pathologisch. Die geschädigten Telophasen sind gegenüber den Kontrollen nur wenig vermehrt. Interessanterweise zeigte sich hier ein Unterschied nach 31-MeV- und 180-keV-Bestrahlung. Die Gesamtzahl der Telophasen ist nach 31-MeV-Bestrahlung um 10% größer und damit der pathologische Anteil. Ob aus diesem andersartigen Verlauf ein Unterschied der Wirkung von 180-keV- und 31-MeV-Röntgenstrahlen gefolgert werden darf, erscheint fraglich.

Nach 48 Stunden ändert sich die Verteilung gegenüber den 24-Stundenwerten wenig. Meta- und Anaphasen sind weiter vermehrt, die Telophasen vermindert.

Der pathologische Anteil dieser Phasen ist unverändert.

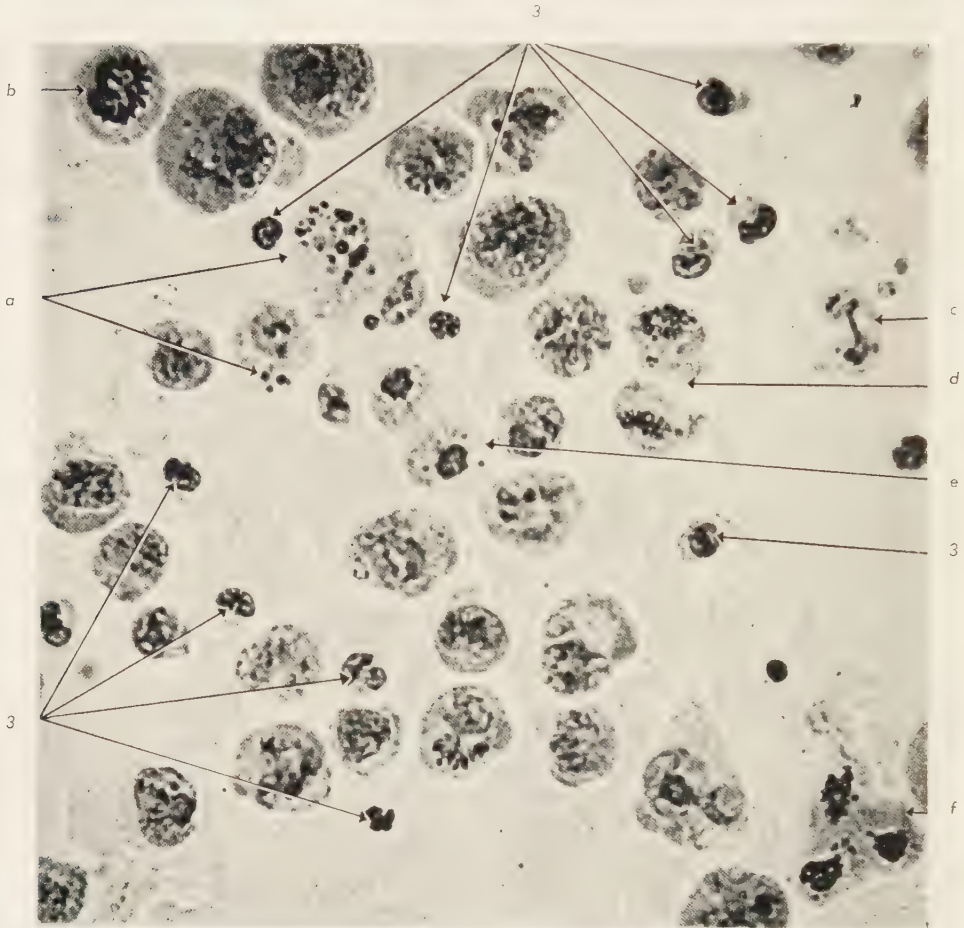


Abb. 12. Ehrlich-Asziteskarzinomzellen 24 Stunden nach Bestrahlung mit 31-MeV-Röntgenstrahlen (200 r). Auf der Abbildung ist gut die Vielfältigkeit der Mitosestörungen zu erkennen. 3 = Kleinzellnekrobiosen. a) = karyorrhektische Zellen, b) = Metaphase mit Fragmentationen, c) = pyknotische Anaphase mit Brückenbildung, d) = Telophase mit Fragmentationen, e) = pyknotische Telophase mit Plasmagranula, f) = Telophase (Triaster) mit pyknotischen Chromosomen. Vergrößerung etwa 1400fach.

B. Morphologie der Ehrlich-Asziteskarzinomzellen nach Röntgenbestrahlung

Mitosen

Die Untersuchung der pathologischen Mitosen zeigt keine Form, die nicht auch beim unbestrahlten Asziteskarzinom zu finden wäre (s. o.) Abb. 12/13.

Es scheint jedoch bemerkenswert, daß 24 Stunden nach Bestrahlung mit 180-keV- und auch 31-MeV-Röntgenstrahlen polyploide Metaphasen etwa verdoppelt und die Polyaster in der Telophase (Abb. 11) etwa viermal häufiger auftreten.

Bemerkenswert ist ferner 48 Stunden nach Bestrahlung die Häufung von Metaphasen, deren Chromosomen, kurz und dick, regellos im Zytoplasma liegen. Manchmal sieht man bei diesen und bei polyploiden Teilungen, daß ein Teil der Chromosomen verklumpt und anscheinend abgestoßen werden kann.

Allgemeines Zellbild

Gleich nach der Bestrahlung sind keine wesentlichen Unterschiede erkennbar. Beim Wiederansteigen der Mitosen sind in den Kernen vermehrte Vakuolenbildung und Auflockerung des Chromatins zu beobachten. 24 Stunden nach Bestrahlung ist in wenigen Fällen eine Quellung der Zellen zu beobachten, nach 48 Stunden ist sie fast die Regel. Die Plasmastruktur ist vergrößert, teils verwaschen. Da es sich bei den Plasmagranula nach *Schümmelfeder* (7) um Reaktionsprodukte vitaler Zellen handelt, wurde untersucht, ob die Bestrahlung einen Einfluß auf den Promillwert der Granula enthaltenden Zellen hat. Es wurde in der Tat eine Erhöhung gefunden, die eventuell eine zusätzliche Röntgenschädigung bedeutet (Plasmagranula = Abb. 14).

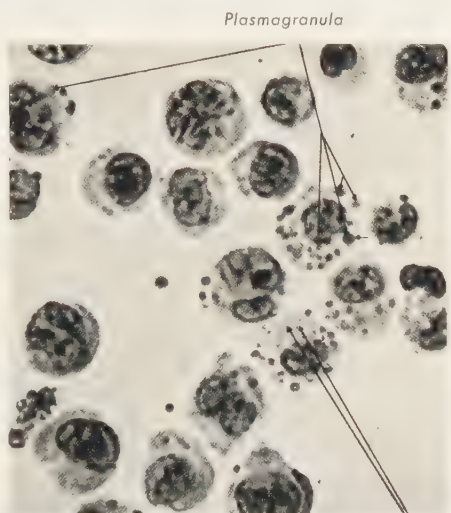
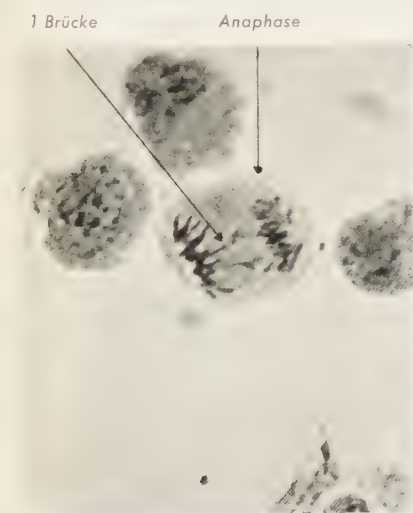


Abb. 13. Doppelte Brückenbildung bei einer Anaphase 24 Stunden nach 180-keV-Bestrahlung mit 400 r. Vergrößerung etwa 1500fach.

Abb. 14. Ehrlich-Asziteskarzinomzellen 5 Stunden nach 31-MeV-Bestrahlung mit 200 r. Deutlich zu sehen sind die Plasmagranula, die teils zu Vakuolen umgebildet sind. Vergrößerung etwa 1500fach.

Quantitative Analyse der Zellformen nach Bestrahlung

Die Anzahl der Nierenkernigen — 1a — scheint unverändert, ebenso die der Kernamitosen. Die Mehrkernigen — 2 — sind 24 Stunden nach Bestrahlung von 0,77% auf 1,05% angestiegen. Das Verhältnis der Anzahl der Kerne ist unverändert. Die Riesenzellen — 2a — sind nicht vermehrt. Die Kleinzellnekrobiosen — 3 — sind erst 48 Stunden nach Bestrahlung deutlich bei einigen Tieren sehr vermehrt. Zellen mit unterteilten Kernen (Pseudoamitosen nach *Stöhr* [31]), wie sie nach Röntgenbestrahlung in vielen Pflanzenzellen, in der Salamanderhaut

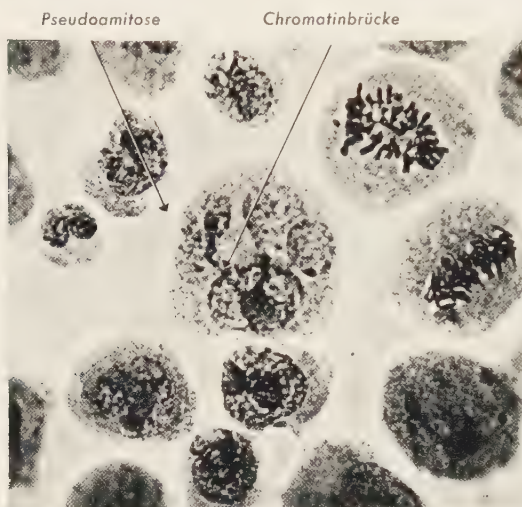


Abb. 15. Ehrlich-Asziteskarzinomzellen 24 Stunden nach 180-keV-Bestrahlung mit 200 r. Man sieht eine Pseudoamitose — „Röntgenkern“ nach *Luther* — mit Chromatinbrücke. Aufnahme mit Phasenkontrastmikroskop. Vergrößerung etwa 1500fach.

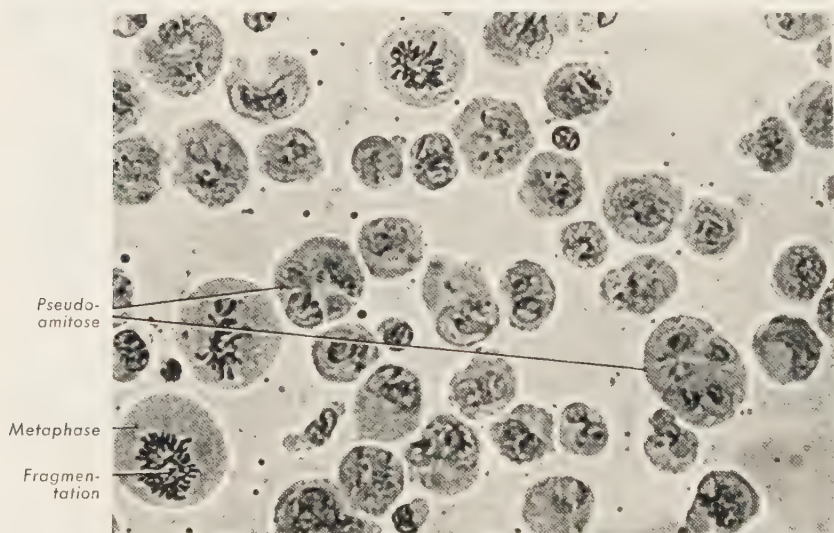


Abb. 16. Ehrlich-Asziteskarzinom 24 Stunden nach 180-keV-Bestrahlung mit 200 r. Deutlich zu sehen sind zwei Pseudoamitosen — „Röntgenkerne“ nach *Luther* — ferner Kleinzellnekrobiosen und eine Metaphase mit Fragmentation. Vergrößerung etwa 1100fach.

und im Kaninchenbindegewebe beobachtet wurden, werden von *Luther* (24) „Röntgenkerne“ genannt. Diese Kerne, deren Teile durch mehrere schmale Brücken zusammengehalten werden, entstehen nach einer Teilung in Zellen, von deren Chromosomen einzelne Stücke abgesprengt worden sind. Nach *Luther* (24) scheinen sie im soliden Ehrlich-Karzinom zu fehlen. Bei unseren Untersuchungen traten sie nach Bestrahlung in $1,70/_{00}$ aller Zellen auf, waren extrem selten aber auch bei den Kontrollen zu finden (Pseudoamitosen Abbildung 15/16).

Diskussion der Ergebnisse

Das Mitosenminimum des Ehrlich-Asziteskarzinoms war in diesen Versuchen 5 Stunden, das Maximum 24—48 Stunden nach Bestrahlung festzustellen. (Nach *Luther* [16] beim soliden Ehrlich-Karzinom 36 Stunden nach Bestrahlung.)

Anfangs kam es zu einer relativen Vermehrung der Prophasen, wie dies beispielsweise bei *Vicia faba* von *Jüngling* und *Langendorff* (26), dem Wurzelspitzen­gewebe von *Scilla campanulata* von *Marquardt* (27) und nicht zuletzt mit Dosen über 64 r bei Neuroblasten von Heuschreckenembryonen von *Carlson* (28) festgestellt wurde. Nach *Carlson* kommt die Vermehrung einmal dadurch zustande, daß Zellen in der Mitose gestoppt werden, die die „kritische Periode“ während der Bestrahlung noch nicht erreicht hatten. Die kritische Periode liegt nach ihm bei den Neuroblasten 5 Minuten vor Auflösung der Kernmembran, wenn die Chromosomen ihre maximale Prophasenentwicklung erreichen. Der Mitosenablauf soll dann für 2—3 Stunden sistieren. Ist die Dosis höher, stoppen die meisten Zellen in früher und später Prophase den Mitosenablauf und kehren in frühere Stadien zurück, um die anderen Teilungsstadien zu einem späteren Zeitpunkt zu durchlaufen. Eine Verzögerung kann aber ebenso durch Einwirkung auf Interphase und frühe Prophase erfolgen. Interessant ist es, daß zur Zeit des Mitosenminimums die Mitosen in einer der normalen recht ähnlichen Verteilung auftreten, alle Stadien also mehr oder weniger gleichmäßig gehemmt sind. Diese Tatsache legt auch den Schluß nahe, daß die Hemmung bei den nicht erfaßten frühen Prophasen oder den Interphasen erfolgte.

Die Ergebnisse 24 Stunden nach Bestrahlung weichen von denen *Luthers* (29) ab, die dieser allerdings am soliden Ehrlich-Karzinom und bei 4000 r und 11000 r und größerer Dosisleistung gewonnen hat. *Luther* glaubte, daß beim Späteffekt die geschädigte Zelle in der Metaphase sistiert und zugrunde geht oder die Teilung rückgängig gemacht wird, so daß Riesenkerne mit vermehrtem Chromosomensatz entstehen. Gerade in der Anaphase ist dagegen die Schädigung durch Brückenbildung usw. recht deutlich. Die eigenen Untersuchungen zeigten, daß von einem Teil der Teilungen die Anaphase noch erreicht wird und nach 31-MeV-Bestrahlung sie sogar teils erst in der Telophase sistieren. Ein ähnliches Ergebnis zeigten die Untersuchungen von *Würmli* (30) am soliden Ehrlich-Karzinom.

Der Vergleich der 180-keV- und 31-MeV-Bestrahlung mit den Dosen von 100—500 r zeigt keinen statistisch gesicherten Unterschied. *Würmli* (30), der das solide Ehrlich-Karzinom der weißen Maus mit 31 MeV und 180 keV bestrahlte, konnte eine geringere Wirksamkeit der 31-MeV-Strahlen feststellen, so wie es auch Ergebnisse an Mutationen, Phänokopien, Mäuseletalität, Teilungen der *Vicia faba* usw. zeigten.

Als vergleichendes Testobjekt scheint das Asziteskarzinom nicht sehr geeignet. Einmal sind Zellbild und Mitosenrate je nach Aszites variabel (bei großen Zahlen bleiben die Werte allerdings konstant), zum anderen überschneiden sich dem Ehrlich-Asziteskarzinom eigentümliche pathologische Zell- und Mitosebilder mit den durch Bestrahlung hervorgerufenen. Immerhin ist die Analyse übersichtlicher als beim soliden Ehrlich-Karzinom.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. 2, 5, 8, 12, 24 und 48 Stunden nach 180-keV- und 31-MeV-Bestrahlung des Ehrlich-Asziteskarzinoms mit 500 r wurden Mitosekurven aufgestellt. Das Mitosenminimum wurde nach 5, das Mitosenmaximum nach 24—48 Stunden festgestellt.

2. Die Senkung der Mitosen ist nach 31-MeV-Bestrahlung etwas weniger groß als nach 180-keV-Bestrahlung, doch ist der Unterschied nicht signifikant.

3. Für 100—500 r wurde eine Dosiseffektcurve aufgestellt (Betatronbestrahlung auch mit 35 r). Nach 35 r ist die Hemmung der Mitosen (5 Stunden nach Bestrahlung) schon deutlich. Die stärkste Hemmung wurde mit 400 r und 500 r erzielt. Es traten noch $0,76^{0}_{00}$ und $0,8^{0}_{00}$ Mitosen, bezogen auf die Gesamtzellzahl, auf.

4. Der Unterschied zwischen den Dosiseffektkurven nach 180-keV- und 31-MeV-Bestrahlung ist nicht bedeutsam.

5. Die quantitative Analyse der Mitosen ergab 2 Stunden nach Bestrahlung eine Vermehrung der Prophasen, nach 5 Stunden ihr Absinken auf die Norm und eine Vermehrung der Metaphasen, die nach 24 Stunden verstärkt auftritt. Die Vermehrung der Metaphasen ist nicht nur durch gestoppte bedingt. Die Telophasen sind nach 5 Stunden teils, nach 24 Stunden allgemein vermindert, dabei liegen die Werte nach 180-keV-Bestrahlung nach 5 Stunden deutlich und nach 24 Stunden wenig niedriger als nach 31-MeV-Bestrahlung.

Die geschädigten Mitosen — bei den Kontrollen insgesamt 25% — sind in den einzelnen Stadien auf 50% und mehr angestiegen.

6. Es treten nach Bestrahlung keine geschädigten Mitoseformen auf, die nicht bei den Kontrollen zu finden wären. Polyaster sind vermehrt.

7. Das quantitative Verhältnis der einzelnen Zellformen des Asziteskarzinoms wird durch die Bestrahlung kaum beeinflusst.

Summary

Cellular structure, especially of mitosis, of the Ehrlich-Ascites-Carcinoma, without and after irradiation, the rhythm of mitosis after 500 r — min. after 5 h, max. after 24—48 h — and the effects of the dose — 100—500 r — were analysed, showing 31-MeV-radiation less effective, however insignificantly.

Résumé

La structure des cellules, surtout de la mitosis, du Ehrlich-Ascites-Carcinome, sans et après rayonnement, le rythme de la mitosis après 500 r — min. après 5 h, max. après 24—48 h — et les effets de la dose — 100—500 r — furent analysés, la 31-MeV-radiation étant de moindre effet, quoique d'une manière insignifiante.

Schrifttum

1 Fritz-Niggli, H., Fortschr. Röntgenstr. 80 (1954): 28; Separatum Experientia Vol. X (1954): 209 — 2 Homann, W., Zschr. Krebsforsch. 58 (1951/52): 511 — 3 Romeis, B., Mikroskopische Technik, München, 1948 — 4 Loewenthal, H., G. Jahn, Zschr. Krebsforsch. 37 (1932): 439 — 5 Haagen, E. u. P. G. Seeger, ebd. 47 (1938): 394 — 6 Haagen, E. u.

B. Krückeberg, ebd. 47 (1938): 382 — 7 *Schümmelfeder, N.*, ebd. 58 (1951/52): 666 — 8 *Landschütz, Chr.* u. *G. A. Kausche*, ebd. 57 (1951/52): 509 — 9 *Seeger, P. G.*, Arch. exper. Zellforsch. Jena 20 (1937): 280 — 10 *Pirwitz, J.*, *B. Schwär* u. *K. A. Seyfarth*, in „Mikroskopische und chemische Beiträge zum Krebsproblem mit besonderer Berücksichtigung der zytologischen Krebsdiagnostik“ red. von C. Coronini/Wien 1949, 3. Sonderband zur „Mikroskopie“ — 11 *Dietrich, A.* u. *L. Schützinger*, Zschr. Krebsforsch. 56 (1948): 121 — 12 *Ringleb, D.* u. *E. Scherer*, Strahlenther. 90 (1935): 35 — 13 *Graffi, A.*, Zschr. Krebsforsch. 50 (1940): 196 — 14 *Huth, E.*, ebd. 58 (1951/52): 218 — 15 *Auler, H.* u. *B. Hohenadel*, ebd. 50 (1940): 30; 48 (1939): 149 — 16 *Luther, W.*, Strahlenther. 73 (1943): 671 — 17 *Vollmar, H.*, Arch. exper. Zellforsch. Jena 22 (1939): 407 — 18 *Brodersen, H.*, Strahlenther. 73 (1943): 196 — 19 *Dittmar, C.* u. *H. Maas*, Zschr. Krebsforsch. 55 (1944): 109 — 20 *Fritz-Niggli, H.*, Oncologia 7 (1954): 86 — 21 *Ries-Gersch, E.*, Biologie der Zelle, Leipzig 1953 — 22 *Scherer, E.* u. *H. Bergmann*, Ärtzl. Forsch. 8 (1954) I: 164 — 23 *Jüngling, O.* u. *H. Langendorff*, Strahlenther. 69 (1941): 202 (Luther zit. nach 23) — 24 *Luther, W.*, ebd. 68 (1940): 669 — 25 *Fisher, R. A.*, Statistical Methods For Research Workers, Edinburgh Tweeddah Court-London, 1946 10th edition — 26 *Jüngling, O.* u. *H. Langendorff*, Strahlenther. 38 (1930): 1 — 27 *Marquardt, H.*, Zschr. Botanik 32 (1938): 401 — 28 *Carlson, J. G.*, Effects Of Radiation On Mitosis / Symposium On Radiation Genetics sponed by The Biology Division Oak Ridge National Laboratory March 1948: 89 — 29 *Luther, W.*, Strahlenther. 72 (1942/43): 679 — 30 *Würmlì*, im Erscheinen, Oncologia Vol. VII, Nr. 4 (1954) — 31 *Stöhr, Ph.*, *W. v. Möllendorff*, Lehrbuch der Histologie, Jena 1949 — 32 *Homann, W.*, Ärtzl. Forsch. 8 (1954) I: 161.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. *H. R. Schinz* für sein Entgegenkommen und die Bereitstellung des Versuchsmaterials und Frau P. D. Dr. *H. Fritz-Niggli* für die außerordentlich freundliche Betreuung der Arbeit.

Für die Eichung der Geräte und photographische Arbeiten bin ich Fräulein *M. von Beckerath*, ferner für histologische Arbeiten Fräulein *M. von Beckerath* und Fräulein *J. Berger* zu großem Dank verpflichtet.

Curriculum vitae

Am 27. Mai 1928 wurde ich, *Kurt Reiche*, in Detmold geboren. Ab Ostern 1934 besuchte ich vier Jahre lang die Volksschule meiner Heimatstadt Lage, dann bis 1941 die dortige Oberschule und zuletzt das Leopoldinum, eine Oberschule für Jungen in Detmold. 1944 wurde der Schulunterricht durch den Kriegshilfsdienst unterbrochen. 1945 wurde ich bei einem Bombenangriff verwundet. Nach Kriegsende besuchte ich erneut das Leopoldinum und machte dort 1947 mein Abitur. Im selben Jahre begann ich mein Medizinstudium an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz, das ich nach zwei klinischen Auslandssemestern in Zürich Anfang 1954 in Mainz mit dem Staatsexamen beendete. Anschließend arbeitete ich an meiner Dissertation in Zürich.